

## ⑫ 公表特許公報(A)

昭61-502419

⑬ 公表 昭和61年(1986)10月23日

⑭ Int. Cl.<sup>4</sup>

識別記号

庁内整理番号

審査請求 未請求

G 01 N 27/28  
21/03  
27/46A-7363-2G  
7458-2G  
Z-7363-2G※

予備審査請求 未請求

部門(区分) 6(1)

(全 11 頁)

⑮ 発明の名称 化学試験方法に使用するためのデバイス

⑯ 特 願 昭60-502717

⑰ 出 願 昭60(1985)6月12日

⑱ 翻訳文提出日 昭61(1986)2月13日

⑲ 国際出願 PCT/CB85/00260

⑳ 国際公開番号 WO86/00138

㉑ 国際公開日 昭61(1986)1月3日

優先権主張 ㉒ 1984年6月13日 ㉓ イギリス(GB) ㉔ 8415018

㉕ 発 明 者 シャンクス, イアン・アリグザ  
ンダーイギリス国、ベドフォード・エム・ケイ・43・7・ティー・ワイ、  
ベイヴンハム、ザ・ベリー・56

㉖ 発 明 者 スミス, アラン・マーティン

イギリス国、ベドフォード・エム・ケイ・43・7・ジエイ・ユー、  
カールトン、ザ・マーシュ・23㉗ 出 願 人 ユニリーバー・ナームローゼ・  
ベンノートシャープオランダ国、ロッテルダム、バージミースターズ・ヤコブプレー  
ン・1

㉘ 代 理 人 弁理士 川口 義雄

㉙ 指 定 国 AU, JP, US

最終頁に続く

## 請 求 の 範 囲

1. 毛細管作用によりキャビティ内にサンプル液が吸入できるだけ充分小さい大きさを各々が有している 1つ又は複数のキャビティを持つ特異的反応性サンプル収集及び試験デバイスであって、前記キャビティがリンブルの 1つ以上の電気的に測定可能な特性を測定する 1つの電極構造を含んでおり、デバイスで実施される試験に過する物質の被膜もキャビティの壁の表面に適宜有しているデバイス。
2. 毛細管セルの 1つ又は複数の内表面上に 1つ又は複数の伝導層を形成してある請求の範囲 1 のデバイス。
3. 層が、伝導性電極のパターンを形成する伝導性被膜を含む請求の範囲 2 のデバイス。
4. キャビティの壁の表面に有している不動態化試薬が生化学的な特異的結合剤、例えば抗原又は抗体である請求の範囲 1、2 又は 3 のデバイス。
5. キャビティの壁の表面に放出可能な試薬の被膜も有している請求の範囲 1～4 のいずれかのデバイス。
6. 前記キャビティの壁がガラス又はプラスチック材料、例えばソーダガラス又はアクリルプラスチックからなる請求の範囲 1～5 のいずれかのデバイス。

7. プレート間に毛細管の大きさの薄い平坦なキャビティを狭すように空間を置いて平行の関係を接合されたプレートの結合構造を含む請求の範囲 1～6 のいずれかのデバイス。
8. そこにサンプル液を適用でき、そこからセル中に吸入することができる外側の装填表面を有する請求の範囲 1～7 のいずれかのデバイス。
9. (a) 複数のデバイスの部分を提供すべきシート材料の表面上に(適宜)不動態化被膜を形成し、(b) 前記被覆シート材料と共に、反応性被膜と接触して毛細管作用によりある量のサンプル液を収集し保持するための毛細管の大きさのキャビティを複数のデバイスの各デバイスに提供する構造を形成し、(c) 各キャビティ内に電極構造を形成し、そして(d) 各々が 1つ又は複数のサンプル収集及び試験デバイスを提供する部分にシート材料を分けるステップを含む、特異的反応性サンプル収集及び試験デバイスの製造方法。
10. 被膜をパターン、例えば分れた部分、例えばパッチの 2次元配列のようなパターンに分割する請求の範囲 9 の方法。
11. 毛細管セルの壁の表面上に電極の印刷したパターンを有する請求の範囲 1 のデバイス。
12. 毛細管セル内容物を光学的に測定しうるように前記表面が

固体透明材料の表面である請求の範囲1のデバイス。

13. 添付の記載及び図面のいくつかの特徴のうちの任意の1つ以上を特徴とする、請求の範囲1のデバイス及び請求の範囲9の方法。

#### 化学試験方法に使用するためのデバイス

本発明は、化学（特に生化学又は臨床）試験方法に使用するデバイス、その製造方法及びデバイスの使用に関する。

ある実施態様では、デバイスは水溶液サンプル中の無機イオンを検出及び測定する方法に、又、その他の実施例では特異的結合アッセイ方法に使用することを意図している。

従来は、アッセイ反応液用の多くの他の液体容器中から、西用的には約0.5mlの作業容量(working capacity)を有するいわゆるマイクロタイターウェルを用いてマイクロスケールの方法をしばしば実施してきた。マイクロスケールのアッセイ材料を操作するための他のデバイスや装置は、例えば、欧州特許第031993、英国特許第1571872、英国特許第1584129及び英国特許第1414479の明細書中に記載されている。

特に、従来技術には少量の試験サンプルを操作し、測定するための分析用デバイスについての多数の開示が含まれている。

英国特許第2 090 659号明細書【インストルメンテーション・ラボラトリー社(Instrumentation Laboratory, Inc.)は、自動充填測定チャンネル(self-filling metering channel)、及び例えば全血約10ml以上のサンプルを載置しうるヘリ(lip)又

は仕入口で構築され、毛管現象により（例えば）10mlを取り上げて、透明な窓の下のフィルター層上の繊維性パッドが含有している試薬と反応させる試験片について記載している。結果は例えば呈色反応として裸眼で見ることができる。

英国特許第2 036 075号明細書【エイチ・イー・メニエ(H. E. Hennier)】、英国特許第1 104 774号明細書【ジェー・ビー・ガラファー(J. P. Gallagher)】、欧州特許第0 057 110号明細書、第0 034 049号明細書、第0 010 456号明細書【コダック(Kodak)】は全部、生物学的流体又は試験流体を操作するための毛管管チャンネル又はチャンバの大きさの使用についてのその他の点について記載している。

従来技術には、化学的に感度のある又は選択的な電極についての多くの開示も含まれている、「分析化学におけるイオン選択性電極(Ion-Selective Electrodes in Analytical Chemistry)」エイチ・フレイザー(H. Freiser)編、プレナムプレス(Plenum Press) 1978)参照。

本明細書中に記載された発明によると、簡便に製造しうる毛管管充填セルデバイスが提供され、非常に少量の液体サンプルを用いる電気的にモニターした試験、例えば、伝導度の測定、特異的イオン分析、酵素反応、特異的結合アッセイを容易なら

しめる。

本発明によると、各々のキャビティ(cavity)が毛管管作用によりサンプル液をキャビティ内に吸入させうるに充分小さい大きさを有する1つ又は複数のキャビティを有し、前記キャビティがサンプル中の電気的に測定しうる特性の1つ以上を測定するための電極構造を含んでおり、キャビティの壁の表面にこのデバイスで実施すべき試験に通ずる物質が適宜被覆されている特異的反応性(specifically-reactive)サンプルを収集し試験するデバイスを提供する。

本発明によると、(a)（通常は）、多数のデバイスの部分を提供すべきシート材料の表面に被膜を形成し、(b) 前記被覆したシート材料と一緒に、多くのデバイスの各デバイスに、反応性被膜と接触して毛管管現象によりある量のサンプル液を収集し、保持するための毛管管の大きさのキャビティを提供する追加構造を形成し、(c) 各キャビティ内に電極構造を形成し、そして(d) 各々が1又は複数のサンプル収集及び試験デバイスを提供する部分にシート材料を分けるステップからなる、特異的反応性サンプル収集及び試験デバイスの製造方法をも提供する。

下記実施例のように、後で毛管管セルの壁を形成するキャリ

アの表面上に先ず伝導膜を形成し、次に任意の補助的材料の膜を追加し、最後にセル又はいくつかのセルを集合させるのが通常は便利であることが分っている。

被膜はデバイスの中に取り込まれた液体サンプル物質中に放出されるべき試薬のような試薬であり得、又は蛋白質含有結合剤もしくは酵素のような特異的反応性物質であってもよい。被膜は融合していても、又は連続していても、又は例えばパッチの2次元配列(アレイ)のような例えば区切れた部分のパターンに分かれていてもよい。もう1つの被膜の有用な例は、毛細管セルキャビティの部分形成するために壁の上に予め形成し又は被膜した電極上に被覆するイオン選択膜である。これらのパッチを作るときには、先ず選択した被膜を形成し、次に例えば分れた部分の配列のような所望のパターンを残すようにその部分を除去するか又は不活性化することにより製造できる。被膜は所望のアッセイに適する特性を持つ放出可能な試薬の膜であり得、例えば、放出可能な抗原又は抗体又はその誘導体の被膜、又は、例えば、免疫吸収剤を形成する共有結合した抗原又は抗体又はその誘導体のような不動態化した特異的結合物質でありうる。毛細管セルを完成させる追加構造は、例えば、好ましくは規定の再生可能な量のサンプル液を毛細管現象によ

実施してもよい。

例えば、毛細管セルの壁を形成すべきガラス、シリカ又はプラスチック基板にそれ自身公知の方法で酸化スズ $\text{SnO}_2$ の伝導性被膜、特に電極のパターンを残すよう部分的に食刻(etch)して除去したものを与えることもできる。複数の電極のこのようなパターンは例えば伝導率又は一般的なインピーダンスの測定に使用することができる。このような伝導性電極上に、本明細書のどこかに記載されている任意の反応性の又はリガンドと結合した被覆を施すことができる。

或いは又、毛細管セルの壁を形成すべきガラス、シリカ、結晶、セラミック又はプラスチックの表面に、その各々が電気化学的な半電池(half-cell)を形成する伝導性被膜、例えば銀-塩化銀電極を形成する被膜を1つ又は複数与えてもよく、これらの被膜は適宜イオン選択性又は他の化学的選択性の膜の上層を有していてもよい。

本発明の実施態様による毛細管セルに含まれるべき電極構造の例は、マトリックスが伝導性粒子を取り込んでいる、非伝導性マトリックス(例えばポリ塩化ビニルのようなポリマーのボディ)からなる複合電極である。伝導性粒子は粒子含有複合物から外部電気回路への伝導経路を供給しうるようなものである。

リシート間に取り込むことができるような、例えば約1mm未満の毛細管空間(capillary space)で第1のシートから離れており、適切な結合接着剤によって第1のシート材料に結合しているもう1つのシート材料でありうる。例えばガラス、石英質又はプラスチック材料のようなシート材料を線を引いて開いたり縫いたり又はのこぎりでひく若しくは切断することによりユニットに分けることができ、下記実施例では、そこにサンプル液を装填又は添加でき、そこからデバイスのキャビティ内に流入する外部の装填用表面(loading surface)又は開口部を残すように実施している。外部装填(load)用表面は少なくともキャビティを充分充填するに充分な液体を(例えば表面上に広がる物質の滴の形状で)含有又は保持する能力を有しているのが好ましい。

下記第1図に示したようなデバイスの実施例では、例えば第2のシートのような追加構造で完成されており、電極を有するシートは毛細管セルの端部を超えて伸びており、外部回路に対する電気的接点の固定点(anchoring point)を提供する。

本発明によれば、本明細書に記載の方法で製造される特異的反応性サンプル収集試験デバイスも提供される。

本発明の毛細管セルの電極構造の製造は多くの方法のどれで

下記に示される実施例では、伝導性粒子が数ミリオーム程度の抵抗に相当する伝導性を持つ複合電極を提供する。この値は決して臨界的ではなく、数オーダーの大きさの低い抵抗も使用できるが、電極材料の抵抗は一般に外部回路の抵抗(しばしば数メガオーム)に比べて小さくなければならない。

このような電極構造は、これも非伝導性ポリマー材料でできている(毛細管セルの壁を形成する)基板の上に形成しうる。

ポリ塩化ビニル以外の、他の基板を形成しうる非伝導性の固体マトリックス又は材料は、例えばポリウレタン、ポリステレン、ポリ酢酸ビニル、エポキシ樹脂(特に伝導性粒子のマトリックスとして)、及びメタクリレートプラスチック並びにガラスのような無機マトリックスである。以下、ポリ塩化ビニル(PVC)の記載では、これらの代替のマトリックス材料のいずれをも使用しうることを意味している。本発明が提供する構造では、伝導性粒子は例えばグラファイト、鉛、プラチナ、金又は銅であってよい。所望であれば、該粒子を取り込んでいるマトリックスは、例えばセラミック基板のような平らな絶縁基板上に伝導性トラックを塗るか又はスクリーン印刷するために、厚膜(thick-film)マイクロ回路製造に使用するために公知であり有用である。伝導性塗料のベースとして使用される塗料ペビ

クルから固体化することにより得られる有機マトリックスであり得る。伝導性粒子の好適粒子の粒径は広い範囲、例えば10~20ミクロン(のオーダー)から200ミクロン(のオーダー)から選択される。複合体への粒子の取り込みの好適レベルは、例えば、(組成容量に基き)10~80容量%のオーダー、例えば50容量%のレベルを含み、又は粒子の性質に応じて、所望の電気伝導度にするに必要なレベルを含み得る。銀-PVCからなる電極構造の1例では(最大粒径)50ミクロンの銀粒子で、重量で銀粒子:PVC粒子が3:1である。

電極の1つの好適な形は、コンダクターと該コンダクターと直接接している非伝導膜マトリックス材料(例えばガラス又は有機ポリマー)とからなり、コンダクターは上記のような伝導性粒子を取り込んだマトリックスからなり、有機膜材料は研究すべき特定の分析物に対し電極を敏感にするためのイオノフォアのような増感成分(sensitising component)からなり、有機膜材料は伝導性複合体のマトリックスにしっかりと結合している。例えば、膜材料とマトリックスが便利には両方とも同じポリマーであってよく、例えば溶解溶接のような簡便な方法のいずれによってでも共に溶解又は結合することができる。

伝導性粒子のためのマトリックス材料としてPVCを使用す

るときには、次に、可塑剤を全く含まないか、又はほんのごく少量含んでいるPVCを使用することが(伝導性粒子を含む領域のPVCについては)好ましい。(これを我々は「純粋な」PVCと記す。)(この領域では10重量%のオーダー以下の可塑剤が存在するのが好ましい、好ましくはより少なく、例えば<5%、例えば<1%である。)

膜材料の場合、イオノフォア又は他の増感成分の好適含量の例は、例えば膜組成全体の5~10重量%の範囲内である。イオノフォア含有領域の厚さは例えば0.1~0.5mmでありうる。イオノフォア又は他の増感成分を含む領域のPVCは、従来のイオノフォア-PVC膜で使用されているように、通常は便利には比較的大量の可塑剤を含んでいるべきであり、例えばイオノフォア含有量の多くは、例えば1:1~1:2の範囲の重量比のPVC:可塑剤組成から成ることができる。イオン選択ポリマー膜、特にPVC膜と一緒に使用するに有用な可塑剤の例にはジオクチルフェニルホスホネート、ジエチルアジペート、ジオクチルセバケート、トリオクチルホスフェート及びオーニトロフェニルフェニルエーテルが含まれる。有用なイオノフォアの例は、カルシウムツイソクチルフェニルホスフェート(カルシウム感受性電極用)、バリノマイシン(カリウム感受

性電極用)、トリドデシルアミン(水素イオン感受性電極用)、燐化、臭化又はヨウ化銀粒子(ハロゲン化合物感受性電極に対応)硫化銀粒子(硫化物感受性電極用)、硫化銀と硫化銅の粒子の混合物(硫化物と銅に感受性の電極用)を含んでおり、より一般的には、従来から単結晶電極を作るために結晶の形で使用されていた任意の物質の微細に分割した粒状形状のものを電極膜のポリマー又は他の非伝導性マトリックス中に含むことができ、その量は、試験又は測定すべき同種の溶液の対応する成分の存在に対し電極が反応できるように粒子が電気的に有効な接触をするに十分な量である。

本発明の毛細管セルデバイスはある実施例では次の特徴も持つことができる。

(a) 所望であれば、キャビティを四壁の少なくとも1つが可視及び/又は紫外線のような光に透過性であり得、光学的に均一で一般に滑らかな表面を有しており、そのために、電極により可能な電気的測定と同様に、その場でサンプル吸着及び特異的結合能を有する反応の生成物を光電気的測定及び/又は光学分析することができる。

(b) いくつかの例では、デバイスのキャビティは、セルを形成する2つの向い合った壁の間の、好ましくは結合又は結合ユ

ニットとして作成した薄い平坦なキャビティでありうる。いくつかの例では、例えば、このような実施態様は、液晶ディスプレイの製造の中間段階として得られるような未充填液晶ディスプレイデバイスの構造に類似のプレートの結合構造を包含し得るものである。

本発明の1つの面によると、(好ましくは使い捨ての)(多半透明又は透明の)毛細管セルが提供され、これは本明細書に記載の方法で製造し得、特異的結合アッセイを実施するためのものであり、約1mm未満の間隔を持ち、或る(好ましくは規定)量の(通常は水性の)液体を毛細管現象で取り上げ保持することのできる開口のある液体保持セル(liquid-retentive cell)を形成するようシールされている1組の向い合ったプレートからなり、その内表面の少なくとも1つには実施すべき試験に適する酵素、染料分子、抗体、抗原又は抗原型のような被膜を持ち、又、サンプルの1つ以上の電気的に測定できる特性を測定するための電極又は電極構造を含んでいる。「規定量(defined media)」はセル自身の形状や配置により実質的に決められる容量であり、過剰に適用したときにサンプルの量から明らかに決められるものではない。

上記の型のセルはガラス又はプラスチックのシートから組み

立てることができ、プラスチックのシートを使用するときには、正確な箱型、例えば毛細管セルキャビティの成分の壁の空間を調整するリッジ(ridge)のようなスペーサーを有しているものの形であり得る。

そこにセルを嵌すに充分量のサンプルを適用でき、そこから毛細管作用によりサンプルが容易に毛細管キャビティ内へ吸入することができる。外側表面部分又はヘリ(lip)をセルが有することができる。サンプルを便利に装填するに充分大きい表面積を与えるに充分な距離だけ、セルの開口(aperture)を外側に向けて超えてプレートの1つを押すことによりこのようなヘリを容易に形成することができる。入口のもう1つの形状は、毛細管セルの1つの壁の開口で形成されるものであり、例えば、サンプルを装填するセルの肉いあった壁の部分を出させる穴である。ヘリ又は開口に多孔性プラグ(porous plug)のような多孔性フィルター、又は例えば戸紙又は透析膜をつけて、毛細管セルに入るサンプルのその部分を所望の程度に戸過又は透析することができる。

セルのシーリングはエポキシ樹脂を用い、開口を残し、例えば矩形の毛細管セルの2つの向いあった側に沿って樹脂を裏打ちすることにより実施でき、装填用開口とセルが充填されるに

このような他の不動感化に実施する任意の方法でこのような空白質をガラス又はシリカ又はプラスチック表面に不動感化することができる。例えば、同時に又は連続的にキャリア表面上に結合剤と蔗糖を単に被覆し乾燥させるのが有用である。所望であれば、特にプラスチック材料の場合には、欧州特許第0 014 530 号明細書[ユニリーバー(Unilever)]明細書及び本明細書に引用した参考文献に記載の任意の方法で、ガラス及びシリカのような石英含有物質を包含する広範なキャリア材料について、「工業的反応器用の不動感化酵素(Immobilised Enzymes for Industrial Reactor)」[メシング(Messing)編、アカデミックプレス(Academic Press)、1975; 特にフィルバート(Filbert)第3章]又は例えば米国特許第3652761号明細書又は英国特許第1530997号明細書に記載の任意の方法で、共有及び他の不動感化を行うことができる。

下記の電位差測定用又は電流測定用の電極の実施例の場合は特に、毛細管セルの表面上に1つ以上の被膜を形成する物質はイオン性の塩、例えば塩析塩であり得、例えば蔗糖又は他の非イオン性添加剤のようなグレーゼ(glaze)形成不活性基板と予混合した塩の耐い被膜であり得る。

特に電流測定用電極の場合には、電極構造は酵素と、酵素反

従って毛細管セルから空気が出ていけるためのもう1つの開口を作る。好ましくは、固体粒子は樹脂の上に仕込むので、プレートの所望の空間を確保するために樹脂が固体粒子を含むことができる。選択した毛細管ギャップに対応するか又は直径約100ミクロン程の実質的に単分散のパロチニ(monodisperse ballottini)(微細ガラス粒子)のような粒子、又は、例えば直径8ミクロン、長さ50~100ミクロンの短いグラスファイバー(例えば長いグラスファイバーをモーターグランドし、ふるい分けして残った長いファイバーを除去して作ったもの)が、該パロチニ又は該ファイバーの直径のオーダーの小さな空間を調整するのに適している。一般に非限定実施例として、5~500ミクロンの範囲の空間が選択される。ファイバーは単分散パロチニよりも約50ミクロン未満の直径で荷やすいので非常に狭いギャップにはファイバーを選択する。より広いギャップにはパロチニが好ましい。

毛細管セルキャビティの壁上の被膜を形成する物質又は物質の1つは、例えば酵素、抗原又は抗体でありうる。好適な例は、ウレアーゼ、グルコースオキシダーゼ、コンカナバリンA又は抗グロブリン抗体である。特に酵素被膜の場合には、酵素を不動感化するか、又は放出可能な形状で被覆することができる。

応から電極構造の伝導部分への電子の移動を容易にするメディアータ、例えばグルコースオキシダーゼから電極への電子の移動を容易にしうるフェロセン(ferrocene)とで被覆されていてもよい。

インピーダンス測定用デバイスの場合には特に、セルの1つの壁の上にある2つの電極間の領域は、ある種の免疫アッセイで使用される金のソル粒子のような伝導性粒子と結合しうる特異的結合剤で被覆することができる。

例示するために添附の第1~9図と以下の記載により本発明の実施態様を説明する。

第1図は、本発明の実施態様による、電極を含有する毛細管セルデバイスの概略図を示している。第2図はもう1つの使い捨ての毛細管セルデバイスの概略的断面図を図式的に示している。第3図は第2図のセルデバイスの概略図を示し、第2図の断面の線を示すための線I-Iを含んでいる。

第4図は第2~3図のデバイスを複製製造する中間段階の概略的断片図を示す。

第5~8図は本発明の更にその他の実施態様で提供される電極装置の図式的横断面図を示す。

第1図は本発明の毛細管セルデバイスの形状を示している。

第1図に示すセルデバイスは、結合トラック3により下部プレート2と離されている上部プレート1からなる。3個の複数の毛細管キャビティは、プレートの間隔を設けてキャビティの側面の境界を定める4つの結合トラック3で形成されている。第1図のデバイスは電極10及び11からなる互にかみあった電極構造を有しており、電極の各々は図示したパターンを形成するように食刻して除去されている全体的な酸化スズ( $\text{SnO}_2$ )の伝導性被膜の部分から構成されている。伝導性の酸化スズ膜は、半導体や液晶産業でそれ自身公知であり、それ自体は本発明の一部ではない方法で、製造され食刻される。

所望であれば、酸化スズ被覆電極構造の上部及び/又は向いたプレート2の内面に1つ以上の被覆層(第1図には示さず)を形成することもできる。

電極10と11は毛細管セルを越えてプレート2の表面6へと続き、他の電気的回路やデバイスに接続するための接続点12と13で終っている。(所望であれば、電極10と11は、図面に示した所以外の適切な接続点へ、結合図3の下を通過して、セルのもう1つの部分の接続点まで続いてもよい。)

電極11と12の1組をデバイスの各構成セルが具備している。1つの組のみが完全に図示しており、図面中に充分参照されて

接着剤の結合トラック3により1mm未満離れた間隔に平行に向い合うように一緒に固定され、両端が開放されている毛細管セルキャビティ4を形成しており、このキャビティは結合トラック3の第一の不連続部位を通して外部とつながっていてプレート1の側面5でセルの開口を形成している。結合トラック3の他の端部にももう1つの不連続部分があり、試料液がセルに充填されるときに空気を排出させるためのもう1つの開口となる。プレート2はプレート1より大きく、開口から伸びている部分6を有している。プレート2の部分6はそこにサンプル液滴を適用しうるプラットフォーム又は入口(threshold)又はヘリとして作用し、そのため毛細管の破れによりこの液体が毛細管セルキャビティ4を充たすことができる。キャビティ4はこのように充填したときに規定の適切に再生可能な量の液を引き付け、含有する。

毛細管セルを使用すべき試験方法に関連する物質の層7を毛細管セルの内表面に不動態化する。図面に示した実施例では、図7はプレート2上の物質のパッチであり、他の装置ではプレート1上にある。酵素活性に基づく試験、例えばウレアーゼを用いたアンモニアへの変換による尿素の測定の際には、例えばウレアーゼ酵素のような不動態化酵素の領域でありうる。

いる。このデバイスでは、プラットフォーム6はサンプル装填のために使用されず、デバイスの他側でプレート1を越えてプレート2も伸びており、サンプル装填用プラットフォームを提供している。プラットフォームを3つのサンプル装填領域15に分けるように結合トラック3の2つの中心トラックの延長14によりこのプラットフォームは分けられている。3個のコネクター12と13は、接続点12と13を有しているプレート2のエッジにより毛細管セルデバイス全体を合わせることのできるエッジコネクターデバイス17の対応するワイヤ16と適合しうるように調整されている。

このような毛細管セルデバイスは特に電気伝導度の測定に有用であり、ある場合には例えば特異的結合剤で被覆した金のゾル粒子のような伝導性粒子のような他の伝導性材料を含むことができる。

第2～3図は、図面から電極構造をはぶいていることを除いて、本発明の実施態様のデバイスの毛細管セルを図式的形状で示している。デバイスは操作が容易な大きさ、例えば3mm×1.5mmである。デバイスは上部(例えばプラスチック、ガラス、PVC又はシリカ)プレート1と下部(例えば、同様)プレート2(約1mm厚)からなり、これらは適切な(例えばエポキシ)

又、免疫アッセイに関連して、層が例えば不動態化抗体であり得る。このような層は1層以上あってもよく、例えばプレート2と同様にプレート1上に1層あってもよく、又はいずれかのプレート上に複数の層を重ねる及び/又は並べて(side-by-side)もよい。第2～3図には示していないが、毛細管セルの内表面を覆打ちする層7又は他の層が第1図に関して記載したような1つ又は複数の伝導層を含んでおり(第2～3図には示していない)、伝導性外部接続は、所望であれば結合図3とプレートの表面との間を通り、セルの内部からセルの外部への伝導性トラック又はコネクターにより提供される。これらは半導体及び液晶ディスプレイの製造にしばしば用いられるような伝導性トラックの慣用の表面加工に使用されるそれ自身公知の方法で製造される。

第2図に示す断面は、その層が結合トラック3を通して伸びていないために空間を有するプレート1と2を覆っている。

第2～3図に示すような複数のセルの製造は第4図に示す。第4図はこのようなセルを製造する中間段階を示す断面図である。プレート2を作るガラス又は他の物質の大きなプレート8を洗浄し、適切な方法で上記のいずれかの種類の材料のパッチ7で被覆し、結合しうる接着剤のトラック3と同様に電極層

をパターン化する。図示していない第2のプレートは、適宜トラック3に対応する結合トラックをその上に形成した後に、及びその他の任意の所定材料でパッチ又はトラックを適宜形成した後に、プレート8に圧着し、接着剤を固化する。次に、第4図の点線9で示す線と、上部プレートの対応する線（しかしながら線9と表示する必要はない）に沿って集合体を増すか又は切断する。その結果、第2～3図に示すセルのようなセルが得られる。

第4図の装置は基板の方法としてのガラスシートの使用に関して記載されている。排他的にはないが特にプラスチックシートを使用するときには、平面シート以外の、例えばスペーサーリッジ(spacer ridge)を使用すると便利であり、毛細管セルを集合させる前に、本明細書中のどこかに記載されているような入口開口(inlet apertures)及びフィルター装置をこのようなシートの部分として付加することもできる。

本発明により製造される他のデバイスの中で第2～3図の毛細管セルデバイスは、所望であれば、便利な形の操作片(handling-piece)又はホルダーを具備してもよく、この目的のためには、セルデバイスと一緒に1つの片に形成されない場合には、このようなホルダーと共に使うための固定した又は取りはずし

のできる任意の便利な形の接続装置を具備してもよい。

一般に、生化学的試験の待機被膜が存在し得る。それらは不動態化されるか（すなわち放出されない）、又は放出可能な被膜、例えばプレート上の膜内で蛋白質-底物配合物を空気乾燥させて形成したものであってよい。これらはデバイス内で実施されるべき特別な試験の化学特性により選択され、組みあわされる。実施されるべき試験の部分をなす化学又は結合反応の範囲には、全ての種類の電気化学的、酵素的、結合及びクエンチング(quenching)反応を包含するが、いくつかの試験は毛細管セル内でこのような反応を起すことを全く必要とはしないことを強調する。

セルの内表面上への反応性不動態化蛋白質（例えば、酵素又は抗体）の形成は例えば下記のようにして行うことができる。

例えば約1mm厚で、セル部分の2次元配列を含むに充分大きく、各方向に複数のいくつかのセルのユニットをもつ（例えばソーダ）ガラスのシートを、任意の適切な方法、例えば洗浄と超音波処理、及び必要であれば公知の方法での溶媒蒸気による抽除去により、又は過酸化水素アンモニアと塩酸/過酸化水素での連続的溫度処理（80℃）、水洗及び例えば115℃、30分間の空気乾燥により清浄にする。次に、以下の又はそれと同等な

方法で、所望の蛋白質又は他の被膜のパッチを適用する。まず、公知の方法で（例えば末端アミノ-アルキルトリメトキシシラン、又は実質的に例えば3-アミノプロピル化合物のような他の試薬、実質的に米国特許第3652761号明細書に記載されているもう1つの試薬を用いて、好適にはアセトン中約2% v/vで）ガラスとシランをベースとするカップリング化合物とを反応させ、次にガラス上に不動態化したアミノ末端を（例えば2%, pH7の）グルタルアルデヒドと反応させ、過剰な試薬を除去し、それ自身公知の成分手法により、不動態化したアルデヒド基で活性化したガラスを溶液中の蛋白質との反応に露出することにより、抗原又は抗体又は他の蛋白質の共有結合が達成される。例えば、ここでは37℃で、約pH9.5で、2時間の処理が適切であることが発見された。ガラス表面上への適切な最終的な活性蛋白質装填速度(loading rate)は例えば約0.5ng/cm<sup>2</sup>である。これは連続又は近連続層(near-continuous layer)を構成すると考えられる。不動態化層の量又は密度又は比活性は特別なアッセイの化学特性の感受性要求により決定され、それ自身は本発明の部分形成しない。例えば、強力な緩衝剤(0.1M 酢酸塩、0.5M NaCl, pH 4~5)で洗浄し、次に中性緩衝剤で洗浄し(pH7~7.4)、その後pH 9~10で洗浄し、中和するこ

とにより過剰の試薬を除去できる。

後に蛋白質（例えば酵素被膜）の任意の部分を選択し、又は不活性化することを望むときには、次の手法が使用できる。被覆したシートを次に実質的に空気を含まない閉じた雰囲気の下ラフト内に置くことができ、例えばもう1つの不活性表面の近くに置いて被覆した側の空気ギャップを約1mm以下に減すことができる。次に、被膜を選択して除去又は不活性化すべき部分に対応するパターン（例えば、格子パターン）に、紫外線でパターン化されたイメージを用いて、該シートを照射し(C.280nm付近の実施しうだけの狭い波長バンドの光を用いるのが好ましい)、残存する活性蛋白質パッチのパターンを残す。例えばプレートから数センチ離してあるGE7-ワット水銀ランプを約5~20分間使用して照射を行うことができる。プレートに近いマスキング又は実像システム(real imaging system)で照射パターンを作ることができる。ここで使用した紫外線食刻(etching)は、参照しているジェー・エー・パニツ(J. A. Panitz)、アイギーバー(I. Giaver)がサーフェスサイエンス(Surface Science)、92(1980)25~42ページに記載したU.V.食刻プロセスと同じ原理に基づくと考えられる。

次に、上部の空間を置いたプレートとの接続を形成するため

に、所望のパターンでパッチ被覆したガラスプレート上にUVで固化しうるエポキシ接着剤を印刷する。それ自身慣用であり、本発明の一部ではないシルクスクリーン技法でエポキシ接着剤を適用する。

エポキシ樹脂には少量の（例えばモーター内で長いグラスファイバーをひきつぶし、ふるいわけして残った長いファイバーを除去して作った）、直径約20ミクロン、長さ約100~200ミクロンの短いグラスファイバーを有していてもよい。グラスファイバー片の代りに下記のように用いて、エポキシ樹脂内にパロチニを含むことも好ましい。例えば100ミクロンのギャップを作るために、対応する大きさのパロチニをエポキシ中に取り込ませる。プレート間の所望の空間より少し厚い、例えば10%厚い、例えば100ミクロンの空間を望むときには約110ミクロンのエポキシ層をスクリーン印刷で成せ、追加のプレートを定位に静かに押しつけてエポキシを軽く広げることができる。

所望であれば、同じもしくは異なる蛋白質もしくは他の被覆材料でパッチ状に被覆したか、又は未被覆の第2の同様なガラスシートに対し、パターンとしてエポキシ接着剤の第1のパターンの鏡像を適用することができ、次にこの2枚のパターンのシートを合わせて、固化するために必要であれば真空又は脱膜

素にして、紫外線照射で固化させる。活性状態で残っているべき被覆蛋白質又は他の材料のパッチを塗けるパターンを有するイメージで紫外線を適用する。

接着剤を固化した後、液晶デバイスの製造に使用される任意の公知の方法、特に液晶ディスプレイデバイスの製造に関連するCH-627559号及び629002号明細書に参照された方法で、2つのプレートを個々のセルユニットに線を引いて破る(scribed and broken)ことができる。これらの明細書と本発明の方法での対応するステップは、必要な変更を加えて同様な方法で実施できる。

このプロセスで得られる便利な形のセルは、毛細管セルが規定量の水溶液を取り上げ得るようにするために、それらの間に存在する結合材料の不完全な隙を有する、約5~500ミクロンの空気で隔された空間（液体が入るための少なくとも1つの開口と、空気が出るためのもう1つの開口をも有することができる）を持つ、2枚の實質的に平行に向きあった層からなる。ガラス層の1つはセルの開口を越えて伸び、その表面上に液滴を載せ、それをセル内に全体的に又は部分的に入れることができる。特にプラスチック材料で作ったデバイスの場合には、サンプルを装填するためにセルの1つの壁に開口を作るか又は残

すことができ、これが上記のフィルターデバイスを有していると好ましい。

第5~9図は、本発明実施態様による更に5個の電極を含有する毛細管セルデバイスを概略的に横断面図で示している。各図面で、グループ51と52は毛細管セルの向いあった壁を表わしており、明らかにするために電極以外のその他の構造ははぶかれている。各々で、毛細管のギャップは0.1~1mmのオーダーであると便利であり得る。

第5図では、空間を持って離れている1組の電極55と56は壁52の表面に固定した態として示されている。電極55はイオン選択性（例えばカリウムイオン選択性）電極であり、56は基準電極として有効に作用する、例えばポリスチレンの薄膜を被覆した電極のようなイオン非感受性電極である。電極の構成の適当なモードは下記に記す。

第6図に、空間を持って離れている2つの電極61、62からなるカリウムイオン濃度を測定するための電極含有毛細管セルデバイスを示している。61は（カリウム感受性の）電極であり、62はpH感受性の基準電極である。毛細管セルの向い合う壁51上に、（カリウムを含有しない）pH緩衝剤を含有する放出可能な膜63を被覆する。この被覆は毛細管セルに取り入れられたとき

にサンプル液中に放出され溶解される放出可能な被膜（例えば蔗糖グレーゼ）である。

第7図では、電極62が61と異なるイオン（例えば塩素）（基準イオン）に感受性のあるイオン選択性電極であることと、パッド被膜63が基準イオンの塩を緩衝作用量含有していること。例えば、サンプル液で予閉されるより好ましくは非常に大きい塩素イオン濃度を提供するように、毛細管セルに取り込まれるサンプル液中に標準濃度で放出され溶解されるべき塩系イオンを含有する被膜であることを除いては、第6図の装置と同様な装置である、電極61がカルシウム感受性電極ではない場合には、被膜63中の塩のカチオン成分はカルシウムであると便利であり得る。

第8図は、カリウムイオン濃度を測定するためのもう1つのデバイスを示している。第8図では、電極81と82が同じイオン選択性電極、この場合はカリウム選択性電極である。セルの向い合った壁上の放出可能な被膜83は、セル中に取り込まれるサンプル液中に放出されるべき標準濃度のカリウム（例えばKClとして）を含有している。被膜83は、電極82に面していて電極81には面しておらず、部分的又はパッチ状被膜であり、電極81は試験の間に被膜83から電極81に放出されるイオンの顕著な拡



液を最小限にするよう選択された、例えば 1mm より顕著に大きい距離だけ、電極 82 と被膜から離れている。

本発明のデバイスのもう 1 つの実施例は第 8 図に示すものと同様の配置を有してよく、アンモニアイオン選択性電極又は pH 電極と不動態化ウレアーゼ酵素とを用いる尿素濃度の測定を目的とする。この実施例では、上に記し、引用した一般的手法から適切な物質を選択して電極 81 及び 82 をアンモニアイオン選択性電極として製造し、被膜 83 は不動態化したウレアーゼ酵素の膜からなる。この毛細管セルによる尿素測定法の使用においては、完全に反応させるために、被膜 83 と電極 82 に隣接したサンプル被膜域で尿素の含有量をウレアーゼと反応させると便利であり有利であり得る。81 と 82 との間の距離は必要な反応時間の間、このギャップに於ける顕著なアンモニアの拡散を避けるに充分なだけ大きくなければならない。

適切なイオン感受性電極構造、バリアー及び被膜を、例えば下記のように、毛細管セル構造の内壁を形成すべき表面上に含有させてもよい。この適用のために好適な基板材料は PVC である。材料を適用するパターンを調整し得るスクリーン印刷のような方法によって電極及び被膜物質を適用するのが好ましい。

例えば、このような構造を製造するために、例えば以下のよ

うに種々の添加剤を添加した (loaded) ポリ塩化ビニルのようなマトリックスの塗膜層を作成すると便利であり、これは本発明の範囲に入る。(例えば、適切な溶媒中に懸濁した粉末状、(例えばジョンソン マッティ (Johnson Matthey) P230 のスクリーンプリント可能な銀として市販されているもの) を含む可塑性と PVC の溶融を用いて)、銀-粒子-添加の PVC の膜を伝導性被膜層として適用することができる。これは、その表面で近づき得るように、そして有用な伝導性構造と伝導的に接触する塩化銀含有量を得よう処理することができる。又、そしてある環境下では、好ましくは、塩化銀粒子を添加した PVC からなるもう 1 つの領域 (Zone) を同等な効果で具備することができる。塩化銀を与える処理の後に、イオノフォア又は他の増感性成分を添加した可塑性した PVC のもう 1 つの領域を与えることができる。複合物を空気乾燥し、適切な溶媒中のバリノマイシンイオノフォアとジオクチルフェニルホスホネート可塑性剤の混合物を用いてイオン選択性 PVC 膜を適用する方法で、例えばカリウムイオン選択性膜を形成し得る。適切な添加剤を有する溶融 (熱可塑性) PVC の適用層を固化することにより、又はテトラヒドロフランのような相溶性の溶媒中の適切に添加した PVC 溶液から溶媒を蒸発させることにより連続的

に種々の添加剤を添加した (loaded) ポリ塩化ビニルのようなマトリックスの塗膜層を作成すると便利であり、これは本発明の範囲に入る。(例えば、適切な溶媒中に懸濁した粉末状、(例えばジョンソン マッティ (Johnson Matthey) P230 のスクリーンプリント可能な銀として市販されているもの) を含む可塑性と PVC の溶融を用いて)、銀-粒子-添加の PVC の膜を伝導性被膜層として適用することができる。これは、その表面で近づき得るように、そして有用な伝導性構造と伝導的に接触する塩化銀含有量を得よう処理することができる。又、そしてある環境下では、好ましくは、塩化銀粒子を添加した PVC からなるもう 1 つの領域 (Zone) を同等な効果で具備することができる。塩化銀を与える処理の後に、イオノフォア又は他の増感性成分を添加した可塑性した PVC のもう 1 つの領域を与えることができる。複合物を空気乾燥し、適切な溶媒中のバリノマイシンイオノフォアとジオクチルフェニルホスホネート可塑性剤の混合物を用いてイオン選択性 PVC 膜を適用する方法で、例えばカリウムイオン選択性膜を形成し得る。適切な添加剤を有する溶融 (熱可塑性) PVC の適用層を固化することにより、又はテトラヒドロフランのような相溶性の溶媒中の適切に添加した PVC 溶液から溶媒を蒸発させることにより連続的

例えば内表面の 1 方又は両方に電極をスクリーン印刷することにより本発明の毛細管セル内に電流測定用の装置を製造することもできる。

例えば、1 つの金又はプラチナ電極と 1 つの銀/塩化銀電極を印刷することにより過酸化水素に感受性のあるセルが得られる。電極内に一定の電圧をかけると、サンプル中の過酸化水素濃度に比例する電流が得られる。過酸化水素が消費されるに従って電流は減少するが、サンプル中の過酸化水素濃度を測定するためには最初の電流が使用できる。

反対の電圧をかけることにより、サンプル中の酸素濃度が測定できる。

電極の上に拡散限定層 (diffusion limiting layer) を堆積する (deposit) と有利でありうる。

本明細書に記載のセルを使用して、広範な分析物及び反応、例えばイオン、酵素、酵素基質 (特に例えばグルコース、尿素又はクレアチニン) を電気的にモニターできる。

本明細書に記載の発明はその範囲内で多くの修飾や変更が可能であり、特に前記の説明及び添付図面及びその同等物の仕様の 1 つ以上の 1 つ及び複数の特徴を使用することに及ぶ。

本発明の実施態様を構成する複合構造の部分形成するために製造され得る、それ自身公知のイオン選択性膜の性質と種類は非常に広範であり、これは電極を使用すべき特別な最終用途に依るものである。(慣用のワイヤークコアと関連して) ジョーモディ (G J Moody) 及びジョーディーアールトーマス (J D R Thomas) が「分析化学におけるイオン選択性電極 (Ion Selective Electrodes in Analytical Chemistry)」、エイチ フレーザー (H Freiser) 編、プレナムプレス (Plenum Press) 1980 の第 4 章の「ポリ (塩化ビニル) マトリックス膜イオン選択性電極 [Poly(Vinyl Chloride) Matrix Membrane Ion-Selective Electrodes]」に記載した、及びユーフィードラー (U Fiedler) 及びジェー ルジカ (J Duzicka)、アナル. ヒム. アクタ (Anal. Chim. Acta)、57、179 (1973) に記載の詳細な膜電極組成の全部は、参考のために特に本明細書に含まれる。

参考のために本明細書に含まれるもう 1 つの膜の製造の詳細は、エイチ タムラ (H Tamura) らによるものである; アナル. ケム. (Anal. Chem.) (1982)、54、1224~1227 ページ。



INTERNATIONAL APPLICATION NO. PCT/GB 85/00250 (EA 5901)

This Annex lists the patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned international search report. The members are as contained in the European Patent Office EDP file on 08/10/85

The European Patent Office is in no way liable for these particulars which are merely given for the purpose of information.

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US-A- 4053381	11/10/77	BE-A- 854818	18/11/77
		FR-A, B 2352300	16/12/77
		DE-A, C 2722617	01/12/77
		CH-A- 605167	31/08/78
		US-A- 4171366	16/10/79
		JT-A- 52142584	28/11/77
		CA-A- 1071305	05/02/80
		GB-A- 1586788	18/02/81
		JT-A- 5217461	22/10/82
		SE-A- 8205607	01/10/82
		SZ-A- 7705914	20/11/77
		SE-B- 428975	01/08/83
		JT-A- 59170756	27/09/84
US-A- 4413407	08/11/83	EP-A, B 0023157	28/01/81
		WO-A- 8100302	05/02/81
		US-A- 4302313	24/11/81
		AT-B- 54433	15/08/83
US-A- 4137493	30/01/79	GB-A- 157917	01/10/80
EP-A- 0096095	21/12/83	Ncnc	
EP-A- 0121385	10/10/84	WO-A- 8403945	11/10/84
		AU-A- 2730384	25/10/84

For more details about this annex :  
see Official Journal of the European Patent Office, No. 12/82

⑤Int. Cl. 4

G 01 N 33/52  
33/543

識別記号

厅内整理番号

8305-2G  
Z-7906-2G

優先権主張 ③2 1984年6月13日 ③3 イギリス(GB) ③1 8415019

②発 明 者 ニランダー、クラエス・アイヴ  
アン イギリス国、ベドフォード・エム・ケイ・44・1・イー・テイー、  
シャーンブルク、コルワース・ロード・8